



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap**

Institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsvetenskap

Fluorokinoloner – strategier för att minska resistensutvecklingen

Ellen Nyberg

*Uppsala
2015*

Kandidatarbete 15 hp inom veterinärprogrammet

Kandidatarbete 2015:44

Fluorokinoloner – strategier för att minska resistensutvecklingen

Fluoroquinolones – strategies to reduce the development of resistance

Ellen Nyberg

***Handledare:** Carina Ingvast Larsson, institutionen för farmakologi och toxikologi*

***Examinator:** Eva Tydén, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

Kandidatarbete i veterinärmedicin

***Omfattning:** 15 hp*

***Nivå och fördjupning:** grund nivå, G2E*

***Kurskod:** EX0700*

***Utgivningsort:** Uppsala*

***Utgivningsår:** 2015*

Serienamn: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen / Sveriges lantbruksuniversitet, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

***Delnummer i serie:** 2015:44*

***Elektronisk publicering:** <http://stud.epsilon.slu.se>*

***Nyckelord:** Fluorokinoloner, resistens, minska resistensutvecklingen, veterinärmedicin*

***Key words:** Fluoroquinolones, resistance, reduce emerge of resistance, veterinary science*

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning.....	1
Summary	2
Inledning.....	3
Material och Metoder	3
Litteraturöversikt	4
Antibiotikaanvändning	4
Fluorokinoloner.....	4
Användning och betydelse inom human- och veterinärmedicinen.....	4
Egenskaper hos fluorokinoloner.....	5
Resistens mot fluorokinoloner.....	6
Undvika resistensutveckling mot fluorokinoloner	8
Rätt dosering för att minska resistensuppkomst?	9
Andra sätt att minska eller hindra resistensutveckling?	10
Diskussion	11
Litteraturförteckning.....	15

SAMMANFATTNING

Fluorokinoloner är viktiga för behandling av bakteriella infektioner inom både humanmedicinen och veterinärmedicinen. De används speciellt vid komplicerade och akuta infektioner då de har ett brett spektrum, baktericid effekt och en stor distributionsvolym. Den ökande resistensen som utvecklas mot fluorokinoloner är ett hot mot både enskilda individer och samhället som helhet. I denna litteraturstudie undersöks fluorokinoloner och olika strategier att hindra resistensuppkomsten mot dem.

Resistensen mot fluorokinoloner sker främst genom två mekanismer, men ytterligare en mekanism har nyligen upptäckts. De två främsta mekanismerna är förändring av målenzymen och minskad mängd fluorokinoloner i bakterien. Minskad mängd fluorokinolon i bakterien erhålls genom minskat intag samtidigt som uttransporten ökar. Den tredje resistensmekanismen är plasmidmedierad och verkar genom protein som skyddar målenzymen från fluorokinoloner. Ett första steg i att minimera utvecklingen av resistens mot fluorokinoloner är att kliniker och sjukhus använder sig av *good practice*. Detta genom riktlinjer gällande både desinficering av utrustning och miljö, ordentlig handhygien samt riktig och restriktiv användning av fluorokinoloner. Grundläggande åtgärder som dessa har använts länge och varit en stor hjälp för att minska risken för resistensuppkomst. Risken måste dock sänkas ännu mer med hjälp av nya strategier.

Många studier har utförts och pågår för att hitta nya metoder som kan hindra uppkomsten av resistens mot fluorokinoloner. Rätt dosering av fluorokinoloner för att undvika resistensuppkomst är en ny metod som i nuläget utreds. Variabeln *minimum prevention concentration* (MPC) har upptäckts. Resistensrisken minskar om koncentrationen av fluorokinolon i vävnaderna och plasman överstiger MPC. Ytterligare en ny metod som utreds är användning av bakteriofager som komplement eller alternativ till fluorokinolonbehandling. Dessa virus angriper bakterier och kan i kombinationsbehandling öka fluorokinolonernas effektivitet vilket minskar resistensutvecklingen. Möjligheten till utveckling av vacciner som kan höja bakteriernas känslighet mot fluorokinoloner undersöks också. Vaccinet riktas då mot resistent stammar inom bakteriearten vilket gör att de inte längre har en evolutionär fördel jämfört med icke-resistent stammar.

Både nya vaccin, bakteriofager som komplementbehandling och rätt dosering är lovande metoder för att minska resistensuppkomsten. Fler experimentella och kliniska studier behövs emellertid innan dessa behandlingsmetoder kan användas rutinmässigt inom vården. Även om fokus måste läggas på att utveckla nya metoder får inte de grundläggande åtgärderna glömmas bort. Genom att alltid implementera *good practice* minskar resistensuppkomsten och spridningen av resistens. För att minimera risken för resistens mot både fluorokinoloner och andra antibiotikagrupper bör de grundläggande åtgärderna och nya metoder kombineras inom både humanmedicinen och veterinärmedicinen.

SUMMARY

Fluoroquinolones are important in the treatment of bacterial infections in both human medicine and veterinary medicine. They are used especially in complex and acute infections because they have a broad spectrum, a bactericidal effect and a large volume of distribution. The increasing development of resistance against fluoroquinolones is a threat to both individuals and the society at large. In this study both fluoroquinolones and different strategies to prevent the development of resistance against them are investigated.

Resistance to fluoroquinolones occurs mainly through two mechanisms, but an additional mechanism has recently been discovered. The two main mechanisms are mutations of the target enzymes and decreased amount of fluoroquinolones in the bacteria. Reduced amount of fluoroquinolones in the bacteria is obtained through reduced intake while the efflux increases. The third mechanism of resistance is mediated by plasmids and acts through proteins that protect the enzyme targets of fluoroquinolones. A first step in minimizing the development of resistance to fluoroquinolones is implementing the use of good practice in clinics and hospitals. This goal is reached through guidance regarding both the disinfection of equipment and the environment and proper hand hygiene as well as proper and restrictive use of fluoroquinolones. Basic actions such as these have been used for a long time and shown to be a big help in reducing the development of resistance. New strategies must be used to reduce this risk additionally.

Many studies have been conducted and are being conducted to find new methods that may prevent the emergence of resistance to fluoroquinolones. Using correct dosage of fluoroquinolones in order to avoid resistance is currently being investigated. The variable minimum prevention concentration (MPC) has been detected. Emergence of resistance is reduced if the concentration of fluoroquinolone in tissues and plasma exceeds the MPC. An additional new approach is being investigated. This is using bacteriophages as a complement or alternative to treatment with fluoroquinolones. These viruses attack the bacteria and can be combined in treatment with fluoroquinolones to increase the efficiency, which reduces the emergence of resistance. The possibility of developing vaccines that may increase susceptibility of bacteria to fluoroquinolones is also being examined. These new vaccines are directed against resistant strains of bacterial species, which means that they no longer have an evolutionary advantage over non-resistant strains.

Both new vaccines, bacteriophages as a complement treatment and the use of right dosage are promising methods to reduce the development of resistance. However, more experimental and clinical studies are needed before these therapies can be used routinely in health care. Although the focus must be on developing new methods, it is important that basic measures are not forgotten. By always implementing good practice the emergence and spread of resistance is reduced. To minimize the risk of resistance against both fluoroquinolones and other antibiotics basic measures should be combined with new methods in both human medicine and veterinary medicine.

INLEDNING

Överanvändningen av antibiotika som pågått sedan det första antibiotikumet introducerades på 40-talet har medfört en oroväckande resistensutveckling runt om i världen. Denna utveckling är ett allvarligt problem som kopplar samman human- och veterinärmedicinen då antibiotika är livsviktigt inom båda behandlingsområdena och resistensen sprids däremellan (European Commission, 2011; ECDC, EFSA and EMA, 2015). Ökningen av antibiotikaresistens bland bakterier är en risk och en belastning för vår globala folkhälsa. Ökad resistens innebär stora konsekvenser då antibiotika är de viktigaste läkemedlen mot bakteriella infektioner hos både djur och människor (European Commission, 2011).

En grupp antibiotika som i nuläget är viktig inom både humanmedicinen och veterinärmedicinen är fluorokinoloner. Denna antibiotikagrupp har stor betydelse för behandlingen av allvarliga infektioner inom humanmedicinen. Då fluorokinoloner anses vara såpass viktiga har flera steg tagits för att skydda dem genom att minska användningen hos framförallt djur men också hos människor (EFSA & ECDC, 2014). För att minska användningen av fluorokinoloner och därmed risken för resistens är behandling av djur med fluorokinoloner reglerad i svensk lagstiftning. Inom veterinärmedicinen används fluorokinoloner i dagsläget till allvarliga infektioner där annan antibiotika inte är möjlig att använda. Även i akuta lägen där djuret riskerar att dö utan fluorokinolonbehandling får de användas (Statens jordbruksverks föreskrifter om läkemedel och läkemedelsanvändning, 2013).

Vilken är verkningsmekanismen hos fluorokinoloner och hur utvecklar bakterier resistens mot dem? Vilka strategier används för att försöka minska eller hindra utveckling av bakteriell resistens mot fluorokinoloner? Syftet med denna litteraturstudie är att undersöka dessa frågor. Både humanmedicinen och veterinärmedicinen är beroende av fungerande antibiotikapreparat. Den antibiotikaresistensutveckling som idag sker över hela världen måste bromsas innan det är för sent och dessa livsnödvändiga läkemedel blir värdelösa i bekämpningen av infektioner.

MATERIAL OCH METODER

Genom sökning i web of science på Title (fluoroquinolone OR fluoroquinolones) AND Topic (resistance OR "development of resistance") AND Topic (properties OR attributes OR characteristics OR qualities OR traits OR features) hittades referenser. Sökningen omfattade alla år men begränsades till tre ämnesområden: pharmacology pharmacy, microbiology och veterinary science. I Pubmed användes ("antibiotic resistance" OR "antimicrobial resistance" AND Sweden) som sökord. Med begränsades till "other animals" och de senaste 10 åren. Vissa källor har även tagits från referenslistor i Review-artiklar.

De officiella hemsidorna för SVA, Jordbruksverket, EFSA och EMA användes också.

LITTERATURÖVERSIKT

Antibiotikaanvändning

Antibiotika används i stor utsträckning inom både human- och veterinärmedicinen även om användningen på senare år har minskat (Porco *et al.*, 2012; SWEDRES-SVARM 2013). I Sverige är användning av antibiotika i tillväxtfrämjande syfte förbjudet och all antibiotika till djur måste skrivas ut av veterinär. Det här har hjälpt till att minska användningen av antibiotika (Statens jordbruksverk, enheten för foder och hälsa. 2014). Sverige ligger lågt i förbrukning av både fluorokinoloner och andra antibiotikagrupper till djur jämfört med resten av Europa. Förskrivningen har minskat kontinuerligt tack vare bland annat nationella riktlinjer och krav gällande antibiotikabehandling av djur (European Medicines Agency, 2014).

Fluorokinoloner

Användning och betydelse inom human- och veterinärmedicinen

Humanmedicinen

Fluorokinoloner är av stor betydelse inom humanmedicinen och står på WHO:s lista över kritiskt viktiga antimikrobiella preparat (*Critically Important Antimicrobials*, CIA). Det är en av de grupper med högst prioritet att skydda. Användningen av fluorokinoloner inom humanmedicinen är flera gånger större än inom veterinärmedicinen. De används i stor utsträckning inom vården för behandling av komplicerade bakteriella infektioner orsakade av både gramnegativa och grampositiva bakterier. Bland annat används de för att bekämpa livshotande infektioner orsakade av *E. coli*, *Campylobacter spp.* och *Salmonella spp.* (ECDC, EFSA and EMA, 2015). Tidigare användes fluorokinoloner mycket vid behandling av urinvägsinfektioner hos både män och kvinnor men användningen har minskat hos bägge könen och börjat ersättas med preparat som har ett smalare aktivitetsspektrum. Trots detta är fluorokinoloner fortfarande det mest använda preparatet hos män över 65 år med urinvägsinfektioner. Fluorokinoloner utgjorde cirka 10% av den antibiotika som användes inom akutvården och 10% av det som användes på sjukhus i Sverige under 2013 (SWEDRES-SVARM 2013).

Veterinärmedicinen

Användningen av fluorokinoloner till djur är begränsad enligt lag i Sverige. För att få behandla med fluorokinoloner måste provtagning för klassificering och resistensbestämning av bakterierna som orsakat infektionen visa att inget annat alternativ finns. Ett fåtal undantagssituationer finns emellertid inskrivna i föreskriften, vilket innebär att fluorokinoloner får användas vid exempelvis akuta tillstånd där risk finns att djuret dör utan omedelbar behandling eller där provtagning inte är möjligt. Valet att använda fluorokinoloner istället för andra antibiotika måste alltid motiveras av veterinären och motiveringen ska skrivas in i journalen (Statens jordbruksverks föreskrifter om läkemedel och läkemedelsanvändning, 2013).

Försäljningen av fluorokinoloner i Sverige för användning på djur minskade från 2012 till 2013 med nästan 50% till lite över 50 kg aktiv substans såld 2013. Fluorokinoloner är dock fortfarande viktiga för veterinärmedicinen och störst användning ses på hund. Användningen omfattar då främst livshotande och komplicerade infektioner. De fluorokinoloner som i nuläget används till djur är: ciprofloxacin, danofloxacin, enrofloxacin, ibafloxacin, marbofloxacin, norfloxacin, ofloxacin och pradofloxacin (Statens jordbruksverk, enheten för foder och hälsa. 2014).

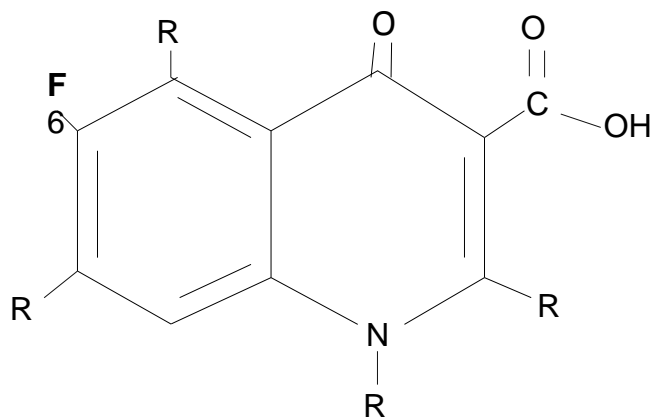
Egenskaper hos fluorokinoloner

Verkningsmekanism och struktur

Fluorokinoloner är en undergrupp till kinoloner. Kinolonernas grundläggande struktur består av två kolringar. Genom tillsatts av en fluoratom på den sjätte positionen på kinolonens kolringar bildas en fluorokinolon (Figur 1) (Wolfson & Hooper, 1989; Andersson & MacGowan, 2003). Fluorokinolonerna har baktericid effekt vid tillräcklig koncentration. De verkar genom att inhibera bakteriernas topoisomeras II (DNA-gyras) och/eller topoisomeras IV. Huruvida endast DNA-gyras eller DNA-gyras och topoisomeras IV inhiberas beror på målbakterien, vilken fluorokinolon som används och vilken koncentration som uppnås av fluorokinolonen. I bakterierna bildar fluorokinolonerna komplex tillsammans med DNA, DNA-gyraser och eventuellt topoisomeras IV. Komplexen med fluorokinoloner hindrar bakteriernas förmåga att replikera och transkribera sitt DNA och RNA och därmed fås en baktericid effekt (Hooper, 2001; Malik *et al.*, 2010).

Fluoratomen som adderats till fluorokinolonerna medför att både hämningen av DNA-gyras och den antibakteriella aktiviteten förbättras avsevärt. Substansens förmåga att inhibera bakteriers DNA-gyras kan bli upp till 10 gånger effektivare när fluoret tillsätts och *minimum inhibition concentration* (MIC) kan bli upp till 100 gånger lägre än hos andra kinoloner. (Andersson & MacGowan, 2003). Genom att tillsätta ämnen på de andra tillgängliga bindningsställena som finns på fluorokinolonmolekylen kan även andra egenskaper förbättras eller försämrats. Likaså en ändring av antalet fluoratomer på position 6 kan påverka substansens kvalitéer. På det här sättet kan olika slags fluorokinoloner med varierande egenskaper och effektivitet bildas (Wolfson & Hooper, 1989; Andersson & MacGowan, 2003; Malik *et al.*, 2010).

Figur 1. Fluorokinolonmolekylens uppbyggnad (R visar positioner där sidokedjor kan tillsättas vilket ändrar molekylens egenskaper.)



Aktivitet

Fluorokinoloner har effekt mot flera olika typer av bakterier. De har främst god aktivitet mot aeroba gramnegativa bakterier men också en bra till måttlig aktivitet mot aeroba grampositiva bakterier. Effektiviteten beror på vilken bakterie det handlar om samt vilken fluorokinolon som används. Viss aktivitet syns också mot vissa anaeroba bakterier men endast hos ett begränsat antal preparat. Olika MIC uppmäts för olika bakterier beroende på vilken fluorokinolon det är som testas. Även naturlig och förvärvad resistens hos bakterierna påverkar vilket MIC som uppmäts (Coulet *et al.*, 2002; Harnett *et al.*, 2004; Silley *et al.*, 2007). Nyare preparat modifieras ofta för att öka aktiviteten mot anaerober och grampositiva bakterier. Vilket innebär att aktiviteten utvidgas och möjliggör effektivare behandling av kombinationsinfektioner där olika bakteriearter medverkar (Silley *et al.*, 2007).

Farmakokinetik

Farmakokinetiken för fluorokinoloner varierar beroende på vilket djurslag som behandlas och vilken fluorokinolon som används. Generellt har fluorokinoloner hög oral biotillgänglighet med snabb absorption. Proteinbindningsgraden är oftast ganska låg och det är främst albumin som binder fluorokinoloner i blodet (Siefert *et al.*, 1999; Cox *et al.*, 2004). Vid fysiologiskt pH blir fluorokinoloner oladdade då de antar sin zwitterform och kan då ta sig över membran. De har en relativt stor distributionsvolym hos de flesta däggdjur (Siefert *et al.*, 1999).

Farmakodynamik

Fluorokinolonernas snabba baktericida effekt är koncentrationsberoende. Effekten kan uppnås genom antingen en hög koncentrationstopp (C_{max} , *maximal concentration*) i förhållande till MIC, C_{max}/MIC , eller en hög total exponering (AUC, *area under curve*) i förhållande till MIC, AUC/MIC. Då dessa två variabler är nära länkade är det svårt att dra slutsatsen att den ena ensam har fullständig betydelse för effekten. Höjs C_{max} så ökar även AUC och vice versa. Oftast har dock AUC/MIC den största betydelsen för att uppnå bäst baktericid effekt vid behandling (Blaser *et al.*, 1987; Drusano *et al.*, 1993; Andes & Craig, 2003; Shojae Aliabadi *et al.*, 2003).

Resistens mot fluorokinoloner

Resistens mot fluorokinoloner orsakas av två huvudsakliga mekanismer. Det viktigaste och vanligaste sättet för resistensutveckling är en förändring av det ena eller båda målenzymen, DNA-gyras eller topoisomeras IV. Den andra mekanismen sker genom att minska mängden fluorokinolon i bakterien. Minskningen sker främst genom en ökad aktivitet hos effluxpumpar men också genom minskat uttryck av proteiner i bakteriens cellvägg. Dessa proteiner som kallas poriner hjälper molekyler, såsom fluorokinoloner, att komma in i bakterien genom att bilda porer i cellväggen. Minskat uttryck av poriner och ökad effluxaktivitet minskar effekten av fluorokinolonet men ger oftast inte total resistens ifall det inte sker tillsammans med en förändring av målenzymen. Utöver dessa två mekanismer har det under senare år också beskrivits en plasmidmedierad resistens mot fluorokinoloner som inte är kopplad till de två huvudmekanismerna. Plasmiderna tros påverka fluorokinolonaktiviteten genom att vissa av

generna de bär på kodar för protein som skyddar DNA-gyras och/eller topoisomeras IV. Fluorokinolonresistens är ofta multifaktoriell med förändring i både effluxaktiviteten och av målenzymerna (Jacoby, 2005; Gibson *et al.*, 2010; Karczmarczyk *et al.*, 2011).

Förändrat målprotein

Fluorokinoloner verkar främst på DNA-gyraset i gramnegativa bakterier och topoisomeras IV i grampositiva bakterier. Detta innebär att gramnegativa bakterier framförallt muterar sitt DNA-gyras medan grampositiva i första hand ändrar sitt topoisomeras IV. Mutationer av båda enzymen kan dock ske hos både grampositiva och gramnegativa bakterier. Genom mutationer i generna som kodar för bakteriernas DNA-gyras och/eller topoisomeras förändras enzymernas uppbyggnad och fluorokinolonresistens uppnås (Jacoby, 2005; Gibson *et al.*, 2010; Karczmarczyk *et al.*, 2011). Var i generna mutationen sitter avgör vilket eller vilka preparat som bakterien uppvisar resistens mot. Vissa områden i generna som kodar för enzymen har större mutationsfrekvens och syns ofta när resistensuppkomst undersöks. Det finns även platser i generna som ger upphov till bred resistens medan andra positioner orsakar resistens mot ett enda preparat (Ruben *et al.*, 2008).

Minskad mängd fluorokinolon i bakterien

Olika bakteriearter uttrycker ett varierande antal och olika typer av effluxpumpar. Dessa transporterar ut fluorokinoloner som kommit in i bakterien. Eftersom effluxpumpar inte är särskilt specifika erhålls oftast multiresistens när aktiviteten uppregleras då även andra substanser transporteras ut. En ökning av uttransporten kan ske genom mutation i inhiberande gener vilket leder till minskad inhibering av effluxpumparna. Mutationer kan också ske i stimulerande gener vilket ger ett överuttryck av generna och en ökad uttransport av exempelvis fluorokinoloner. Ökad aktivitet hos effluxpumparna kan också uppkomma genom ökad eller minskad transkription av gener som styr effluxpumparna (Katz, Seo & Ruble, 1993; Jacoby, 2005; Gibson *et al.*, 2010).

För att ta sig genom bakteriens cellvägg använder sig fluorokinolonerna av poriner. Genom att nedreglera antalet porer minskas också mängden fluorokinoloner och andra substanser som tas in i bakterien. Nedregleringen kan ske genom mutationer eller att bakterien minskar sin transkription av generna som kodar för proteinerna som bildar porerna (Karczmarczyk, 2011).

Plasmidmedierad resistens

Det finns ett antal gener som kan bidra till bakteriell resistens mot bland annat fluorokinoloner och som överförs mellan bakterier i plasmider. Förutom gener som ökar bakteriens resistens genom de två vanliga mekanismerna har även andra gener med en helt annan resistensmekanism hittats i dessa plasmider. De här generna kodar för proteiner som ger en låg grad av resistens vilket underlättar för bakterierna att utveckla högre grad av resistens. Proteinerna tros skydda bakteriernas DNA-gyras och topoisomeras IV genom att binda till dessa enzymer och på så sätt

hindra fluorokinoloner från att binda till dem. På det här sättet hindras fluorokinolonerna att utöva sin effekt och enzymen förblir aktiva. Den låggradiga resistensen som erhålls från proteinerna leder till att bakterier med plasmidmedierad resistens i större grad kan överleva vid suboptimal behandling och utveckla mer resistens (Jacoby, 2005; Kim *et al.*, 2009).

Resistensläge i Sverige

I Sverige är nivån av resistens generellt låg hos de flesta bakterier som fluorokinoloner används mot. Det jämfört med nivån i majoriteten av de andra länderna i Europa. Det finns dock höga resistensnivåer bland några bakteriearter i Sverige, men även denna resistens är i nivå med eller lägre än övriga Europas resistensnivå. I SVA:s rapport om antibiotikaanvändning och antibiotikaresistens under 2013 (SWEDRES-SVARM 2013) konstaterades att av de infektioner med *Salmonella enterica* och *S. typhimurium* på djur var endast 3% respektive 2% av proverna resistenta mot ciprofloxacin. Ciprofloxacin används ofta som indikator för fluorokinolonresistens. Resistensläget var dock värre hos *Campylobacter jejuni* där resistensen som uppvisades var runt 20% hos isolat från nötkreatur och slaktkyckling. Resistensen mot fluorokinoloner hos *Escherichia coli* och *Pseudomonas aeruginosa* från människa var runt 10%. Hos häst och nötkreatur låg resistensen för *E. coli* under 5% medan den hos hund och katt låg strax över 5%. Hos både *Haemophilus influenzae* och *Streptococcus pneumoniae* från människa var fluorokinolonresistensen under 2%. För *Staphylococcus aureus* var resistensen under 4% hos isolat från människor och under 1% hos hästar och hundar. Däremot fanns hög resistens hos *Clostridium difficile* från människa mot moxifloxacin med upp till 100% resistens hos vissa stammar. Hos människa låg resistensen hos *Neisseria gonorrhoeae*, där ciprofloxacin är ett av förstahandsvalen för behandling, strax över 50%. Varken hos *Actinobacillus pleuropneumoniae* eller hos *Pasteurella spp.* kunde någon resistens upptäckas hos isolat från gris. För isolat från hund var resistensen hos *Staphylococcus pseudintermedius* 4% och hos *Pseudomonas aeruginosa* 14% (SWEDRES-SVARM 2013).

Undvika resistensutveckling mot fluorokinoloner

Good practice

Överföring av patogena bakterier mellan patienter på sjukhus och kliniker är ett problem som ökar antibiotikaanvändningen. Som förväntat ansamlas bakterier och virus i miljöer där sjuka djur eller människor finns. En viktig faktor, utöver miljön, för spridning av bakterier inom dessa verksamheter är handhygien hos de som arbetar inom vården. Därför är en ordentlig handhygien lika viktig som steril utrustning och desinficering av områden som patienter uppehåller sig i. Inom akutvården, där fluorokinoloner är väldigt viktiga, är det extra viktigt med god handhygien för att förhindra spridningen av resistens. Ordentlig tvätt av händerna och desinficering med alkohol före, efter och mellan hantering av patienter minskar kraftigt spridningen av infektionsagens. Vilket leder till minskad användning av antibiotika då färre infektioner uppkommer på sjukhuset eller kliniken. Risken för resistensuppkomst kan på det här sättet minskas något (Allegranzi & Pittet, 2009; Chen *et al.*, 2011).

Att bedöma när behandling med antibiotika krävs och att välja rätt antibiotika är viktigt för att hindra resistensuppkomst. Risken för att selektera fram resistens ökar när ett antibiotikum som inte är effektivt mot den aktuella bakterien används eller när antibiotika används i onödan. Till exempel är antibiotikabehandling onödig när orsaken bakom sjukdom inte är bakteriell eller vid lindriga sårskador där ordentlig sårvård räcker för avläkning. Även felanvändning av antibiotika, som till exempel underdosering, ökar resistensrisken. Det är också viktigt att alltid, om möjlighet finns, välja det antibiotika med smalast spektrum för att minska påverkan på normalfloran. Väljs bredare alternativ finns risk att selektera fram resistens hos både patogena bakterier och normalfloran (European Commission, 2011)

Rätt dosering för att minska resistensuppkomst?

Utöver att minska användningen av fluorokinoloner undersöks också möjligheten att förbättra doseringen för att minimera resistensuppkomsten. Många både experimentella och kliniska studier har visat att dosen som används har stor betydelse för utveckling av resistens. Under senare år har ett flertal studier utförts för att undersöka ifall det här kan användas kliniskt vid behandling av både djur och människor (Olofsson & Cars, 2007; Andersson & Hughes, 2012). Den nya variabeln som undersöks är *minimum prevention concentration* (MPC). MPC är den koncentration av fluorokinolonen som krävs för att inga kolonier ska uppstå på en agarplatta efter inkubering av bakterien. Genom att erhålla en koncentration över MPC i den behandlade individens serum och vävnader kan risken för resistensuppkomst minska avsevärt. Värdet för MPC undersöks in vitro för olika fluorokinoloner och olika bakterier. Precis som MIC varierar MPC för olika bakterier och mellan olika fluorokinoloner. För att kunna använda MPC vid behandling måste koncentrationen vara lägre än högsta säkra koncentrationen som uppnås i serum och vävnader efter maximal dos. Annars kan MPC inte överstigas utan risk för toxiska effekter från en alltför hög koncentration av fluorokinolon. Ifall MPC hamnar under den högsta koncentrationen av fluorokinolonen som kan erhållas så kan det här måttet användas för att minska resistensrisken (Blondeau *et al.*, 2001; Olofsson & Cars, 2007; Wang *et al.*, 2010; Andersson & Hughes, 2012; Awji *et al.*, 2012; Gebru *et al.*, 2012).

Med prioritering att undvika resistensutveckling till följd av behandling med fluorokinoloner har förhållandet C_{max}/MIC större betydelse jämfört med AUC/MIC . C_{max}/MIC har ett mindre selektionstryck jämfört med AUC/MIC vilket ger mindre resistensutveckling (Drusano *et al.*, 1993; Andes & Craig, 2003; Shojaee Aliabadi *et al.*, 2003). Vid behandling med fluorokinoloner där en C_{max}/MIC -dosering används bör ration av C_{max}/MIC vara över en faktor på 10 för att en selektion av resistent bakterier i största möjliga mån ska kunna undvika. Ifall maximala koncentrationen av fluorokinolonen är mindre än 8-10 gånger så hög som MIC ses ofta en återväxt av resistent bakterier efter behandlingen. En upprepad behandling med samma preparat ger då ingen baktericid effekt eftersom bakterierna inte längre är känsliga för läkemedlet (Blaser *et al.*, 1987; Drusano *et al.*, 1993). Det här stärker teorin om att variabeln MPC har betydelse (Blondeau *et al.*, 2001; Andersson & Hughes, 2012).

I många studier anser författarna att bakteriella infektioner i nuläget ofta behandlas på ett sådant sätt att det ökar resistensuppkomsten hos bakterier. Konceptet med att resistens uppstår av antibiotikabehandlingar där MPC inte överstigs visar på ett koncentrationsfönster mellan MIC och MPC som är resistensselektande. Om koncentrationen är för låg för att överstiga MPC kan det leda till uppkomst av resistens. Överstigs samtidigt MIC avdödas alla mottagliga bakterier och resistent bakterier selekteras fram (Olofsson & Cars, 2007; Wang *et al.*, 2010; Awji *et al.*, 2012; Gebru *et al.*, 2012).

Andra sätt att minska eller hindra resistensutveckling?

Behandling med bakteriofager

En alternativ behandlingsform som undersöks i syfte att minska antibiotikaanvändningen är användningen av bakteriofager vid bakteriella infektioner. Bakteriofager är virus som specifikt infekterar bakterier. Möjliggöring av bakteriofagbehandling skulle ge många fördelar både för individuella patienter och för att hindra vidare resistensutveckling (Loc-Carrillo & Abedon, 2011; Henry, Lavigne & Debarbieux, 2013). Att bakteriofagerna väl inne i kroppen själva kan replikeras för att uppnå ett tillräckligt antal för att oskadliggöra bakterierna är en stor fördel. Ett par andra fördelar med bakteriofager är att de minskar användningen av antibiotika och risken för resistensuppkomst mot bakteriofager är låg. Bakteriofager är också atoxiska för de behandlade individerna och bieffekter är därför ingen förväntad risk. Dessutom är bakteriofager mycket värdspecifika vilket gör att patientens normalflora oftast inte störs. Vilket minskar risken för eventuella biverkningar ytterligare (Loc-Carrillo & Abedon, 2011; Nilsson, 2014).

Det finns även möjlighet att modifiera bakteriofager för att till exempel ge ett överuttryck av protein. Dessa proteiner kan "märka" bakteriella gener som ansvarar för bakteriens reparationer och skydd mot antibiotika. De "märkta" generna blir målstrukturer för fluorokinolonerna vilket leder till att bakteriernas reparation och skydd påverkas först av fluorokinolonerna. Dessa modifierade bakteriofager kan alltså användas tillsammans med antibiotika såsom fluorokinoloner vilket ger en effektivare baktericid effekt. Bakteriofager kan också modifieras för att öka uttrycket av bakteriernas letala gener vilket ger dem en högre egen baktericid effekt. Dock selekterar denna modifiering för resistens mot bakteriofagerna (Lu & Collins, 2009; Nilsson, 2014). De modifierade bakteriofagerna som "märker" bakteriernas gener har visats kunna både öka effektiviteten hos fluorokinoloner, ge en högre överlevnad hos möss och kraftigt minska resistensuppkomsten i bakterierna (Lu & Collins, 2009). Trots alla teoretiska fördelar med bakteriofagterapi som komplement eller alternativ till antibiotikabehandling är det inte ett alternativ i nuläget. Det finns flera osäkerheter runt bakteriofager i behandlingssyfte som behöver utredas innan det kan börja användas inom vården. Ett exempel är hur bakteriofagerna ska uppnå tillräcklig effektivitet mot bakterierna. Bakteriofagernas immunogenicitet måste vara tillräckligt låg för att de behandlade djurens immunförsvar inte ska rensa ut dem. Vilken bakteriofag som har vilken värd bakterie måste också utredas (Lu & Collins, 2009; Nilsson, 2014).

Vaccin

Profylaktisk behandling med vaccin används för att minska risken för infektion av den bakterie vaccinet framställts för. Behovet av antibiotika minskar genom en lägre frekvens av infektioner. Det leder till att även selektionstrycket på både normalfloran och patogena bakterier minskar. Att framställa vaccin som ger ett tillräckligt immunsvär är emellertid svårt när det gäller bakteriella sjukdomar. Antalet patogena serotyper som finns inom bakteriearten har stor betydelse för ett eventuellt vaccins effektivitet. De vaccin som utvecklas är ofta utvecklade mot ett fåtal serotyper och är endast effektiva mot några nära besläktade stammar av bakterien. Andra patogena serotyper av bakteriearten kan då infektera värdjuret och dessutom gynnas. Det här kan selektera fram mer resistenta stammar vilket gör att vaccinet får en motsatt effekt jämfört med det vaccinet utvecklades för. Bakteriearter med få serotyper och liten varians är därmed mest relevanta för vaccinutveckling. Dock studeras en alternativ utveckling av vaccin för att utnyttja serotypselektionen. Teorin är att om ett vaccin utvecklas mot vissa stammar inom en bakterie som har hög resistens leder användningen av vaccinet till att dessa resistenta stammar tappar sin evolutionära fördel. Ifall denna teori fungerar i praktiken skulle det resultera i en minskad resistensnivå för bakterien då icke-resistenta stammar gynnas (Tekle *et al.*, 2012; Joice & Lipsitch, 2013).

DISKUSSION

Det söks ständigt efter strategier att minska och hindra utvecklingen av resistens mot samtliga antibiotikagrupper och däribland fluorokinoloner. Trots att Sverige i nuläget har låg resistens mot fluorokinoloner och annan antibiotika (SWEDRES-SVARM 2013) är resistensutveckling fortfarande ett stort hot även mot vårt land. En utbredd resistens mot fluorokinoloner skulle få stora konsekvenser, inte bara för individer utan för både vården och samhället som helhet. I vårt globala samhälle förflyttar sig både livsmedel, djur och människor över landsgränser och mellan kontinenter. Denna fria rörelse mellan länder leder till ökad spridning av resistenta bakterier över hela världen. För att hindra fortsatt utveckling av resistens behövs förutom nationell kontroll av antibiotikaanvändningen även internationella samarbeten som omfattar så många länder som möjligt. Det har utförts, och pågår också i dagsläget, många studier med syfte att hitta sätt att stoppa eller minska resistensutvecklingen. Om både antibiotikas bästa användning för att undvika resistens och alternativa eller kompletterande behandlingar som kan minska antibiotikaanvändningen.

Några grundläggande åtgärder för att minska risken för resistensuppkomst som enkelt kan utföras på alla sjukhus och kliniker finns i dagsläget. Risken för spridning av patogena bakterier mellan patienter minskar kraftigt om riktlinjer för handtvätt och därefter sterilisering av händerna med alkohol före och efter patientkontakt uppehålls. Flera studier (Allegranzi & Pittet, 2009; Chen *et al.*, 2011) har visat detta. Detta är en enkel men betydelsefull åtgärd som är mycket viktig att genomföra. Tyvärr är ordentlig handhygien ibland underskattat och det kan antas att slarv i viss mån förekommer inom vården. Det kan också vara svårt att upprätthålla ordentlig handhygien.

Speciellt inom veterinärmedicinen är det ibland svårt att hålla en bra handhygien då viss behandling kan ske till exempel i lantgårdar eller ute i hagar. Det kan antas att kontaminering av både patienter och utrustningen sker i viss utsträckning för veterinärer som arbetar i fältet. Det här då desinficering av miljön behandlingen sker i är svårt under dessa förutsättningar. Även utbildning med fokus på rätt användning av antibiotika är något som måste prioriteras för både veterinärer och läkare. Precis som rapporten från European Commission (European Commission, 2011) poängterar är det viktigt att alla inom vården som har behörighet att förskriva antibiotika kan bedöma när det behövs, vilket preparat som ska användas och bäst användning av det. Alla veterinärer och läkare bör ha tillräcklig kunskap för att undvika onödig antibiotikaanvändning.

Det har både utförts och pågår många studier som undersöker möjligheten att använda en optimal dosering av olika antibiotika och däribland fluorokinoloner för att minska risken för resistensuppkomst vid behandling (Blondeau *et al.*, 2001; Olofsson & Cars, 2007; Wang *et al.*, 2010; Andersson & Hughes, 2012; Awji *et al.*, 2012; Gebru *et al.*, 2012). Mer forskning på dosering behövs för att kunna utvärdera ifall det är möjligt att använda sådan kunskap kliniskt. De studier som använts i det här arbetet (Blondeau *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2010; Awji *et al.*, 2012; Gebru *et al.*, 2012) är alla väl utförda och samtliga undersöker flera olika fluorokinoloner. Slutsatsen som dras i studierna är att resistensrisken vid behandling med vissa fluorokinoloner kan minskas för flera bakteriearter med rätt dosering. Dock är det *in vitro*-studier vilket gör att det inte kan dras några klara slutsatser huruvida det författarna kommit fram till skulle fungera kliniskt. Deras resultat är dock spännande och visar att det här är ett område som borde undersökas mer. Nästa steg är *in vivo*-studier där MPC undersöks. Alla variabler, immunförsvar och andra bakterier med mera, kan utvärderas i hur de påverkar MPC hos den infekterande bakterien. Sådana studier skulle kunna visa ifall denna nya doseringsteknik kan hjälpa till att minska resistensuppkomst. Ses positiva resultat i *in vivo*-studier bör MPC undersökas hos patogena bakterier för inte bara fluorokinoloner utan alla antibiotikagrupper. Kunskap och riktlinjer för dosering som minskar risken för resistensuppkomst måste spridas till vården och inkorporeras i den dagliga verksamheten.

Ett annat nytt intressant sätt att minska resistens som undersöks är behandling med bakteriofager. Antingen som komplement eller som alternativ till antibiotika (Lu & Collins, 2009; Loc-Carrillo & Abedonb, 2011; Henry, Lavigne & Debarbieux, 2013; Nilsson, 2014). Både Lu & Collins (2009) och Henry, Lavigne & Debarbieux (2013) utförde *in vitro*- och *in vivo*-studier där de undersökte bakteriofagernas effektivitet och hur denna behandling påverkade de behandlade individerna. Även om *in vivo*-studierna endast utförts på möss är de positiva resultat som setts en indikator på att möjlighet finns för användning av bakteriofager i kombination med fluorokinoloner och andra antibiotikum. Båda dessa studier (Lu & Collins, 2009; Henry, Lavigne & Debarbieux, 2013) var väl genomtänkta och bra utförda vilket stärker slutsatsen att bakteriofager kan få en betydande roll för att minska resistensuppkomsten vid behandling med antibiotika i framtiden. Att kunna komplettera antibiotikabehandlingen med bakteriofager och erhålla de fördelar som flera studier (Lu & Collins, 2009; Loc-Carrillo & Abedonb, 2011; Henry,

Lavigne & Debarbieux, 2013; Nilsson, 2014) uppvisat hade varit ett enormt steg framåt i behandlingen av bakteriella infektioner. Ökad effektivitet av antibiotikan ger minskad användning och därigenom minskad resistensuppkomst. Lägre doser av antibiotika och kortare behandlingstid ger också mindre selektionstryck på normalfloran, minskad risk för biverkningar och bakteriofager är dessutom atoxiska för den behandlade individen. Om bakteriofager ska användas måste emellertid deras påverkan på andra variabler undersökas. Kommer till exempel MPC att påverkas av samtidig användning av bakteriofager? Skulle det kunna gå att kombinera dessa vitt skilda teorier för att kunna minimera resistensuppkomst vid behandling? Hur mycket påverkas MIC för olika bakterier och fluorokinoloner? Ett annat hinder för användningen av bakteriofager är kostnaden för de studier som behövs för att hitta bland annat vilken bakteriofag som infekterar vilken bakterie, vilka antibiotika de kan kombineras med och dosering. Bakteriofager och modifierade bakteriofager måste också precis som andra läkemedel godkännas för användning. Detta och fler hinder, till exempel allmänhetens syn på att behandlas med virus, saktar ner utvecklingen av denna behandlingsmetod. Läkemedelsföretagen kan dessutom avskräckas eller bestämma sig för att ta den enkla vägen och försöka förbättra antibiotika istället på grund av dessa hinder. Mer forskning om bakteriofager behövs därför och läkemedelsföretag bör uppmuntras att utveckla denna nya behandlingsstrategi.

Vaccin används redan för att få bukt med en del bakteriella sjukdomar. En utökning av denna profylaktiska behandling skulle dock få ett positivt resultat för att hindra resistensutvecklingen genom minskad frekvensen av sjukdomsfall. Vilket minskar behovet av behandling med antibiotika vilket ger minskad resistensrisk. Eftersom det tyvärr är svårt att utveckla effektiva vaccin mot de allra flesta patogena bakterierna (Tekle *et al.*, 2012; Joice & Lipsitch, 2013) verkar vaccin inte vara den lösning som eftersträvas just nu. Den nya tekniken som nu undersöks där de resistenta serotyperna av bakterien är målet verkar däremot lovande för vidare forskning och utveckling. Det finns redan ett par exempel på vaccin som har ett liknande syfte (Tekle *et al.*, 2012). Både Tekle *et al.* (2012) och Joice & Lipsitch (2013) visar positiva resultat i sina studier vilket ger denna teori om att kunna minska resistens genom riktad vaccinering mer styrka. Tekle *et al.* (2012) undersökte betydelsen av vaccination för spridning av Meticillinresistent *Staphylococcus aureus* (MRSA) på ett sjukhus. Deras studie var väl strukturerad med tydligt syfte och ordentlig analys av resultatet. Även Joice & Lipsitch (2013) hade en bra utförd studie som var mycket mer omfattande. De undersökte tre olika vaccin och testade deras effekt på *methicillin susceptible strains* (MSSA). Genom att utveckla riktade vaccin mot till exempel *Clostridium difficile* och *Neisseria gonorrhoeae* där höga nivåer av fluorokinolonresistens har hittats skulle det kunna återfå stammar känsliga mot fluorokinoloner. Det här skulle underlätta mycket för behandlingen då fluorokinoloner är förstahandsvalet för behandling av dessa bakterier. Om riktade vaccin kan utvecklas mot bakterier med höga resistensnivåer skulle smalare antibiotika kunna användas igen och selektionstrycket på normalfloran minska. Dessa vaccin med smala spektrum som är riktade mot resistenta serotyper av bakterier är något som verkar lovande för att kunna hindra resistensuppkomst. Även det här området måste studeras mer för att kunna utveckla effektiva vaccin.

Som denna litteraturstudie har visat är fluorokinolonresistens ett komplext område. Det är dock mycket viktigt att fluorokinolonresistensen tas på allvar och att utvecklingen av nya strategier för att hindra resistensutveckling fortsätter framåt. Det är viktigt att i praktiken genomföra alla grundläggande åtgärder som till exempel handhygien, sterilisering av utrustning, välja "rätt" antibiotika och restriktiv användning av fluorokinoloner. Det här minskar risken för resistensuppkomst vid den behandling med fluorokinoloner som sker i nuläget. Fortsatt utveckling av vaccinflamställning mot bakteriella sjukdomar kan ha en stor påverkan på resistensutvecklingen. Kunskap om nya metoder för att minska fluorokinolonresistens måste också eftersträvas och de som redan studeras måste fortsätta att utvecklas. Även bakteriofager som komplement till fluorokinoloner och att använda dosering för att minska resistens verkar lovande men måste studeras mer innan det kan användas kliniskt.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Allegranzi, B. and Pittet, D. (2009). Role of the hand hygiene in healthcare-associated infection prevention. *Journal of Hospital Infection*, Vol. 73 (2009), s. 305-315
- Andersson, D.L. and Hughes, D. (2012). Evolution of antibiotic resistance at non-lethal drug concentrations. *Drug Resistance Updates* 15 (2012) s. 162– 172
- Andersson, M.L. and MacGowan, A.P. (2003). Development of the quinolones. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Vol. 51, p.1–11
- Andes, D. and Craig, W.A. (2003). Pharmacodynamics of the New Des-F(6)-Quinolone Garenoxacin in a Murine Thigh Infection Model. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, Vol. 47, No. 12, p. 3935–3941
- Awji, E.G., Tassew, D.D., Lee, J., Lee, S., Choi, M., Reza, M.A., Rhee, M., Kim, T. and Park, S. (2012). Comparative mutant prevention concentration and mechanism of resistance to veterinary fluoroquinolones in *Staphylococcus pseudintermedius*. *Veterinary Dermatology*, 2012; 23: 376–e69
- Blaser, J., Stone, B.B., Groner, M.C., and Zinner, S.H. (1987). Comparative Study with Enoxacin and Netilmicin in a Pharmacodynamic Model To Determine Importance of Ratio of Antibiotic Peak Concentration to MIC for Bactericidal Activity and Emergence of Resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, Vol. 31, No. 7, p. 1054-1060
- Blondeau, J.M., Zhao, X., Hansen, G. and Drlica, K. (2001). Mutant Prevention Concentrations of Fluoroquinolones for Clinical Isolates of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, Vol. 45 No.2, s. 433-438
- Chen, Y.C., Sheng, W.H., Wang, J.T., Chang, S.C., Lin, H.C., Tien, K.L., Hsu, L.Y. and Tsai, K.S. (2011) Effectiveness and Limitations of Hand Hygiene Promotion on Decreasing Healthcare– Associated Infections. *PLoS ONE* 6(11): e27163. doi:10.1371/journal.pone.0027163
- Coulet, M., Van Borssum Waalkes, M., Cox, P. and Lohuis, J. (2002). In vitro and in vivo pharmacodynamic properties of the fluoroquinolone ibafloxacin. *Journal of veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 25, s. 401–411
- Cox, S.K., Cottrell, M.B., Smith, L., Papich, M.G., Frazier, D.L., Bartges, J. (2004). Allometric analysis of ciprofloxacin and enrofloxacin pharmacokinetics across species. *Journal of veterinary Pharmacology and Therapeutics*, Vol. 27, s. 139–146
- Drusano, G.L., Johnson, D.E., Rosen, M., and Standiford H.C. (1993). Pharmacodynamics of a Fluoroquinolone Antimicrobial Agent in a Neutropenic Rat Model of *Pseudomonas* Sepsis. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, Vol. 37, No. 3, p. 483-490
- ECDC, EFSA and EMA. (2015). First joint report on the integrated analysis of the consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from humans and food-producing animals.
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Report/2015/01/WC500181485.pdf
- EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), (2014). The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2012. *EFSA Journal* 2014;12(3):3590, 336 pp., doi:10.2903/j.efsa.2014.3590

- European Medicines Agency, European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption.(2014). Sales of veterinary antimicrobial agents in 26 EU/EEA countries in 2012, fourth ESVAC report. *EMA/333921/2014*
- European Commission. (2011). Communication from the commission to the european parliament and the council: Action plan against the rising threats from Antimicrobial Resistance. http://ec.europa.eu/dgs/health_food-safety/docs/communication_amr_2011_748_en.pdf
- Gebru, E., Damte, D., Choi, M., Lee, S., Kim, Y. and Park, S.C. (2012). Mutant prevention concentration and phenotypic and molecular basis of fluoroquinolone resistance in clinical isolates and *in vitro*-mutants of *Escherichia coli* from dogs. *Veterinary Microbiology* 154, s. 384–394
- Gibson, J.S., Rowland, C.N., Kyaw-Tanner, M.T., Heisig, P., and Trott, D.J. (2010). Fluoroquinolone resistance mechanisms in multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from extraintestinal infections in dogs. *Veterinary Microbiology*, Vol. 146 (2010), s.161–166
- Harnett, S.J. Fraise, A.P. Andrews, J.M. Jevons, G. Brenwald N.P. and Wise, R. (2004).Comparative study of the in vitro activity of a new fluoroquinolone, ABT-492. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2004) Vol. 53, p. 783–792
- Henry, M., Lavigne, R. and Debarbieux, L. (2013). Predicting In Vivo Efficacy of Therapeutic Bacteriophages Used To Treat Pulmonary Infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol. 57 Nr. 12, s. 5961–5968
- Hooper, D.C. (2001). Mechanisms of Action of Antimicrobials: Focus on Fluoroquinolones. *Clinical infectious diseases*, 2001;32 (Suppl 1): p. 9–15
- Jacoby, G.A. (2005). Mechanisms of Resistance to Quinolones, *Clinical Infectious Diseases* 2005;41:S120–6
- Joice, R. and Lipsitch, M. (2013) Targeting Imperfect Vaccines against Drug-Resistance Determinants: A Strategy for Countering the Rise of Drug Resistance. *PLoS ONE* 8(7): e68940. doi:10.1371/journal.pone.0068940
- Kaatz, G.W., Seo, S.M. and Ruble, C.A. (1993). Efflux-Mediated Fluoroquinolone Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, Vol.37 No.5, s.1086-1094
- Karczmarczyk, M., Martins, M., Quinn, T., Leonard, N. and Fanning, S. (2011). Mechanisms of Fluoroquinolone Resistance in *Escherichia coli* Isolates from Food-Producing Animals. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 77, No. 20, s. 7113–7120
- Kim, H.B., Park, C.H., Kim, C.J, Kim, E.C., Jacoby, G.A. and Hooper, D.C. (2009). Prevalence of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Determinants over a 9-Year Period. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, Vol.53, No.2 , s. 639–645
- Loc-Carrillo, C. and Abedon, S.T. (2011). Pros and cons of phage therapy. *Bacteriophage*, 1:2, s.111-114
- Lu, T.K. and Collins, J.J. (2009). Engineered bacteriophage targeting gene networks as adjuvants for antibiotic therapy. *PNAS (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America)*, vol. 106 Nr.12, s. 4629–4634

- Malik, M., Marks, K.R., Schwanz, H.A., German, N., Drlica, K. and Kerns, R.J. (2010). Effect of N-1/C-8 Ring Fusion and C-7 Ring Structure on Fluoroquinolone Lethality. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, Vol. 54, No. 12, s. 5214–5221
- Nilsson, A.S. (2014). Phage therapy—constraints and possibilities. *Uppsala Journal of Medical Sciences*. Vol. 119, s. 192–198
- Olofsson, S.K. and Cars, O. (2007). Optimizing Drug Exposure to Minimize Selection of Antibiotic Resistance. *Clinical Infectious Diseases*, Vol. 45, s. 129–36
- Porco, T.C., Gao, D., Scott, J.C., Shim, E., Enanoria, W.T., Galvani, A.P. and Lietman, T.M. (2012). When Does Overuse of Antibiotics Become a Tragedy of the Commons? *PLOS one*, 7(12), e46505. doi:10.1371/journal.pone.0046505
- Ruben, J., Walker, R.D., Blickenstaff, K., Bodeis-Jones, S. and Zhao, S. (2008). Antimicrobial resistance and genetic characterization of fluoroquinolone resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from canine infections. *Veterinary Microbiology*, Vol. 131 (2008), s.164–172
- Shojaee Aliabadi, F., Landoni, M.F. and Lees, P. (2003). Pharmacokinetics (PK), Pharmacodynamics (PD), and PK-PD Integration of Danofloxacin in Sheep Biological Fluids. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, Vol. 47, No. 2, s. 626–635
- Siefert, H.M., Domdey-Bette, A., Henninger, K., Hücke, F., Kohlsdorfer, C. And Stass, H.H. (1999) Pharmacokinetics of the 8-methoxyquinolone, moxifloxacin: a comparison in humans and other mammalian species. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, Vol. 43, suppl. B, s. 69-76
- Silley, P., Stephan, B., Greife, H.A. and Pridmore, A. (2007). Comparative activity of pradofloxacin against anaerobic bacteria isolated from dogs and cats. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* Vol. 60, s. 999–1003
- Statens jordbruksverk, enheten för foder och hälsa. (2014). Försäljning av djurläkemedel 2013. <http://www.jordbruksverket.se/download/18.37e9ac46144f41921cdc47e/1398862999421/Rapport+djur%20l%C3%A4kemedel+2013.pdf>
- Statens jordbruksverks föreskrifter om läkemedel och läkemedelsanvändning (2013). Jönköping (SJVFS 2013:42)
- SWEDRES-SVARM 2013. Use of antimicrobials and occurrence of antimicrobial resistance in Sweden. Solna/Uppsala ISSN 1650-6332
- Tekle, Y.I., Nielsen, K.M., Liu, J., Pettigrew, M.M., Meyers, L.A., Galvani, A.P. And Townsend, J.P. (2012) Controlling Antimicrobial Resistance through Targeted, Vaccine-Induced Replacement of Strains. *PLoS ONE* 7(12): e50688. doi:10.1371/journal.pone.0050688
- Wang, L., Yuansho, Z., Yuhan, Z., Yaojie and Yingxia, L. (2010). Mutant prevention concentrations of fluoroquinolones against *Campylobacter Jejuni* isolated from chicken. *Veterinary Microbiology* 144 (2010) s. 409–414
- Wolfson, J.S. and Hooper, D.C. (1989). Fluoroquinolone antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, Vol. 2, No. 4, p.378-42